

Aus der Dermatologischen Universitätsklinik Basel  
(Vorsteher: Prof. Dr. R. Schuppli)

---

# Experimentelle Untersuchungen über Strahlenschutzwirkung am Meerschweinchen

(5-Hydroxy-indolyl-(3)-Essigsäure)

## Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät  
der Universität Basel

vorgelegt von

**Hansjörg HOBI**

von Berschis (Wallenstadt) SG



---

Verlag von S. Karger in Basel

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von  
Prof. R. Schuppli.

Tag der Promotion: 1. Juni 1965.



Sonderdruck aus «Dermatologica», Vol. 127, No. 6 (1963)

Unter den Substanzen, die eine protektive Wirkung gegen Schädigungen durch ionisierende Strahlen entfalten, steht 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) im Vordergrund [3, 4, 14]. Der Serotonineffekt wurde von *Langendorff* u. Mitarb. genau untersucht [18, 19]. Eine große Anzahl weiterer experimenteller Untersuchungen zeigt analoge Resultate und bestätigt die gute Strahlenschutzwirkung von Serotonin, sowohl bei allgemeiner, als auch bei lokaler Applikation [10, 17, 21, 28, 32].

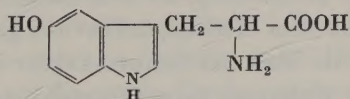
Der Schutzmechanismus des Serotonins ist umstritten. Nach verbreiteter Ansicht soll er auf dem vasokonstriktorischen Effekt beruhen, somit soll die Schutzwirkung durch Gewebshypoxie zustande kommen [14, 28, 29, 33, 34]. Eine andere Hypothese ist die, daß Serotonin durch Neutralisierung freier Radikale wirksam wird [1, 5]. Schließlich wird ein Eingreifen des 5-Hydroxytryptamins in komplizierte biochemische Reaktionsabläufe angenommen [18, 19].

Da der Stoffwechsel des Serotonins weitgehend bekannt ist, schien es uns nun sinnvoll, einige Serotonin- und Tryptophanmetaboliten und chemisch verwandte Substanzen auf ihre Strahlenschutzwirkung zu untersuchen.

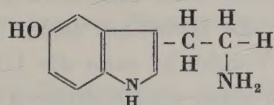
Es handelt sich um folgende Substanzen:

TABELLE I [20]

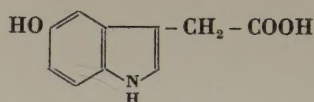
1. DL-5-Hydroxy-tryptophan



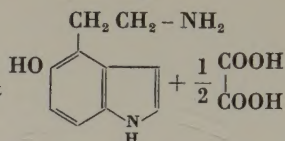
2. Serotonin = 5-Hydroxytryptamin



3. 5-Hydroxy-indolyl-(3)-essigsäure



4. 5-Hydroxy-4-(2'-aminoäthyl)-indol-oxalat



5. 5,6-Dimetoxy-tryptamin

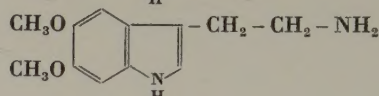
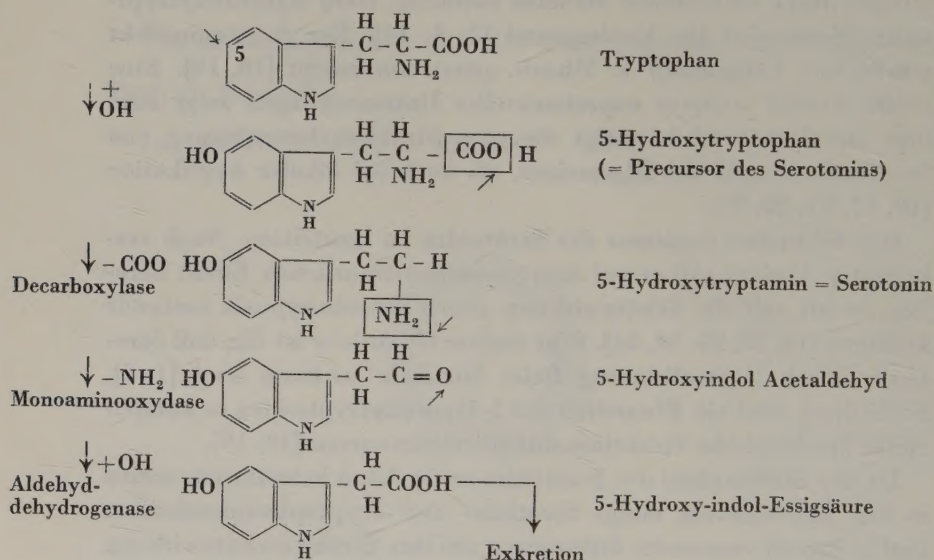


TABELLE II

*Serotoninmetabolismus [30]*

Da die Toxizität des 5-Hydroxytryptamins die praktische Anwendung dieser stark wirksamen Substanz verhindert, untersuchten wir gleichzeitig, ob sich darunter ein Schutzstoff von gleichem oder größerem Wirkungseffekt bei geringerer Toxizität befindet.

Als Maß des Schutzeffektes diente uns in sämtlichen Versuchen die Epilation beim Meerschweinchen (*Maggiara* [22]), ein Test, bei welchem die Resultate leicht makroskopisch ausgewertet werden können. Vergleicht man die Überlebenszeit der Maus [10], so zeigt Serotonin einen vergleichbaren Wirkungseffekt.

Im Hinblick auf den Haarzyklus können die bisher untersuchten Lebewesen in 2 Gruppen eingeteilt werden: Bei einer ersten Gruppe, zu welcher u. a. der Mensch und das Meerschweinchen gehören, entwickelt sich jedes Haar selbständig und unabhängig von den umgebenden. Bei einer zweiten Gruppe, welcher u. a. die Maus, die Ratte und das Kaninchen angehören, befinden sich sämtliche Haare einer bestimmten Gegend in der gleichen Wachstumsphase. Wenn man von der naheliegenden Vorstellung einer verschiedenen Strahlenempfindlichkeit der Haare während der verschiedenen Phasen des Haarzyklus ausgeht, dann sind Mäuse, Kaninchen und Ratten für vergleichende strahlenbiologische Studien ungeeignet [2, 8, 9, 11, 12, 13, 29, 31], weil die Zyklusphase eines bestrahlten Areals unbekannt ist und deshalb die Epilationsdosis schwanken muß.

### Methode

In Anlehnung an das Vorgehen von *Maggiora* [22, 23] bestrahlten wir zunächst die linke Flanke der Tiere (Durchschnittsgewicht 300 g) in folgender Weise: Feld von 2 cm  $\varnothing$ , 55 kV, 10 mA, 0,75 Al-Filter, FHD 15 cm, Apparatur Müller RT 100. Das zu bestrahlende Hautfeld wurde elektrisch rasiert und zusätzlich mit dem Depilatorium 524 Ciba behandelt. 24 Stunden nach der Bestrahlung der linken Flanke wurde die zu prüfende Substanz i. p. injiziert und unmittelbar darauf die rechte Flanke unter den gleichen Bedingungen wie die linke bestrahlt. Bei einer Dosis von 800 r begannen die Haare zwischen dem 8. und 14. Tag auszufallen [27], allerdings nicht an allen bestrahlten Arealen. Wir führten deshalb zahlreiche Versuche mit einer Dosis von 1200 r durch. Dadurch kam an den ungeschützten Feldern eine irreversible Epilation zustande [5, 6, 7]. Vergleichsweise bestrahlten wir auch oft ein Feld mit 800 r und eines mit 1200 r.

Zur Kontrolle der Methode führten wir 2 Vorversuche durch: In einem ersten Versuch wurde die Strahlenschutzwirkung von Serotonin quantitativ geprüft [10, 15, 23, 28]. Es wurden dazu bei 6 Meerschweinchen zunächst an der linken Flanke im oberen und unteren Quadranten je 1200 r appliziert. Nach 24 Stunden wurden je 2 Tieren 50 mg/kg, 35 mg/kg und 20 mg/kg Serotonin i. p. injiziert und 5 Minuten später die gleiche Dosis wie links auf die rechte Flanke gegeben.

Abb. 1 zeigt die Schutzwirkung der genannten Serotindosen gegen Epilation.

In einem zweiten Versuch konnten wir die Resultate von *Maggiora*

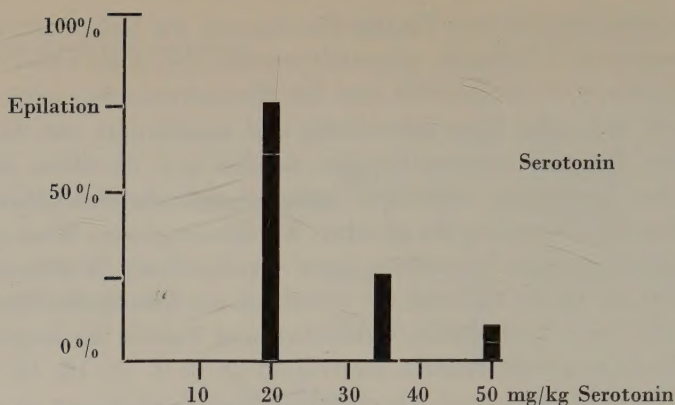


Abb. 1

bestätigen, daß es sich bei der Schutzwirkung des Serotonin um eine prophylaktische Behandlung handeln muß [23].

Es ergab sich nun aus diesen Versuchen die Möglichkeit, ein Maß für die protektive Wirkung einer Substanz aufzustellen und damit den Vergleich verschiedener Substanzen zu erleichtern.

Wir bezeichnen als *protektiven Index einer Schutzsubstanz im Epilationsversuch beim Meerschweinchen* das Verhältnis der Zahl nicht epilierter zu derjenigen epilierter Hautfelder. Sind also z. B. bei 800 r 12 Felder epiliert, nach 50 mg/kg Serotonin aber 10 Felder nicht epiliert, so ist der *protektive Index* von 50 mg/kg Serotonin bei 800 r  $10:12 = 0,8$ . Ist der Epilationsschutz nicht vollständig, so wird dieses Feld als nicht geschützt betrachtet.

### Resultate und Hauptversuche

TABELLE III

#### Resultate der Prüfung der eingangs erwähnten Substanzen

| Substanz                                 | Dosis ders. | Epilationsdosis | nicht epil. Felder/epil. | P. I. |
|------------------------------------------|-------------|-----------------|--------------------------|-------|
| DL-5-Hydroxy-tryptophan                  | 50 mg/kg    | 1200 r          | 5:9                      | 0,6   |
| 5-Hydroxy-4-(2'-aminoäthyl)-indol-oxalat | 50 mg/kg    | 1200 r          | 1:10                     | 0,1   |
| 5,6-Dimethoxy-tryptamin                  | 50 mg/kg    | 1200 r          | 4:12                     | 0,3   |
| 5-Hydroxy-indolyl-(3)-essigsäure         | 50 mg/kg    | 1200 r          | 14:20                    | 0,7   |

Im einzelnen ergeben sich dabei folgende Probleme:

**DL-5-Hydroxy-Tryptophan:** Vergleichen wir unsere Resultate, die eine gute Schutzwirkung mit einem protektiven Index von 0,6 im Epilationstest gezeigt haben mit denjenigen von *Langendorff und Melching*, welche u. a. die Erhöhung der Strahlenresistenz nach der Überlebensquote weißer Mäuse nach Ganzkörperbestrahlung beurteilten, so stimmen sie mit diesen überein [16, 18]. Während bei *Langendorff und Melching* 50 % von 50 Versuchstieren nach 30 Tagen überlebten, war bei uns eine analoge Epilationshemmung zu beobachten. Unsere Resultate weichen somit ebenfalls von denjenigen von *Maurer und Mense* ab, welche keine Wirksamkeit dieser Substanz beim Kaninchen gefunden haben [24, 25]. Möglicherweise liegt der Unterschied in der völlig anderen Methode der Strahlenresistenzbestimmung oder in der Wahl einer anderen Tierspezies.

Daß die beiden Substanzen 5,6-Dimethoxy-tryptamin und 5-Hydroxy-4-(2'-aminoäthyl)-indol-oxolat keine Schutzwirkung gezeigt haben, bedarf keiner besonderen Erklärung.

Hingegen hat uns die starke und dem Serotonin entsprechende Schutzwirkung der 5-Hydroxy-indolyl-(3)-Essigsäure überrascht, hatte diese als Endprodukt des Serotonins auftretende Substanz im Mäuseversuch doch nur einen sehr geringen Schutzeffekt gezeigt (*Melching u. Mitarb.* [26]). Um den Schutzeffekt dieser Substanz weiter zu sichern, prüften wir sie analog dem Serotonin quantitativ und auf ihre prophylaktische und kurative Wirksamkeit.

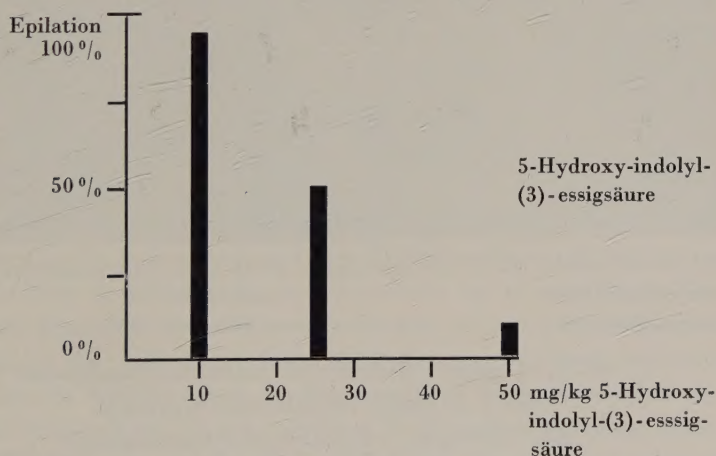


Abb. 2

Abb. 3

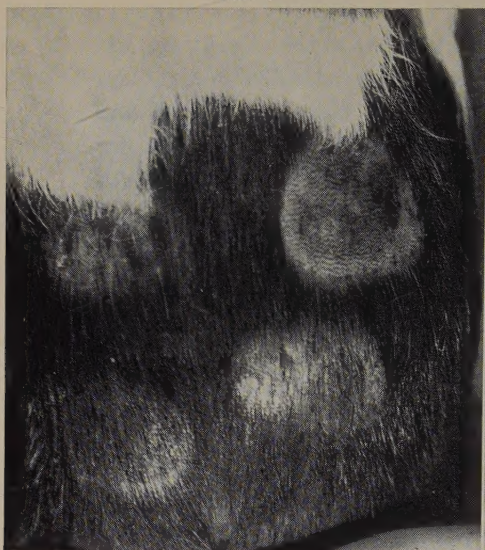


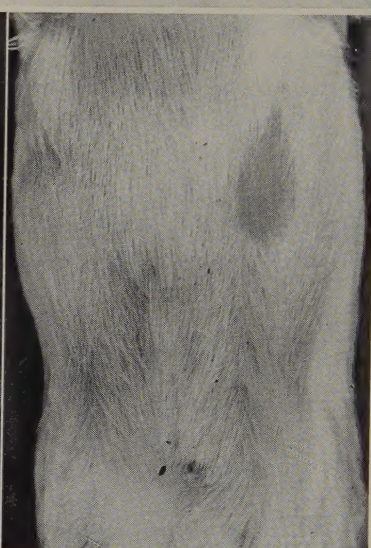
Abb. 4



Abb. 5



Abb. 6



links nach Applikation der Prüfsubstanzen  
oberes Feld 1200 r  
unteres Feld 800 r

rechts ohne Applikation der Prüfsubstanzen  
oberes Feld 1200 r  
unteres Feld 800 r

Abb. 3. 50 mg/kg: 5-Hydroxy-4-(2'-aminoäthyl)-indoloxalat.

Abb. 4. 50 mg/kg: 5,6-Dimethoxy-tryptamin.

Abb. 5. 50 mg/kg: 5-Hydroxy-indolyl-(3)-essigsäure.

Abb. 6. 50 mg/kg: Serotonin.

Abb. 2 zeigt die Abhängigkeit der Wirkung der Substanz von der applizierten Dosis.

Es zeigt sich, daß gleich wie beim Serotonin 50 mg/kg eine fast 100 %ige Schutzwirkung haben, während eine solche mit 25 mg/kg nur noch eine schwache Wirksamkeit zeigt. Es ergab sich ferner, daß die Substanz nur prophylaktisch, d. h. mindestens 5 Minuten vor der Bestrahlung appliziert wirksam ist, während eine 10 Minuten nachher erfolgende Injektion keinerlei protektive Wirkung hat.

### *Diskussion der Befunde*

Die mitgeteilten Resultate unserer Untersuchungen zeigen, daß den beiden Serotoninmetaboliten DL-5-Hydroxy-tryptophan und 5-Hydroxy-Indolyl-Essigsäure ein Strahlenschutzeffekt zukommt, der in der gleichen Größenordnung liegt wie derjenige des Serotonins selbst. Überrascht hat speziell der Effekt der 5-Hydroxy-Indolyl-Essigsäure. Diese Substanz hat sich im Epilationstest als sehr wirksam erwiesen. Da im Schutzversuch an der ganz bestrahlten Maus kein solcher nachzuweisen war, würde hier – falls unsere Ergebnisse bestätigt werden könnten – erstmalig ein divergentes Verhalten zweier Testobjekte gegenüber der Wirkung strahlenschützender Substanzen vorliegen. Bisher haben schützende Substanzen grosso modo in den einzelnen Versuchsanordnungen jeweils analoge Resultate gezeigt. Hier aber würde der Fall vorliegen, daß Serotonin im Versuch an der ganz bestrahlten Maus und im Epilationstest gleichsinnig schützend wirkt, während das Endprodukt des Serotoninabbaus, die 5-Hydroxy-Indolyl-(3)-Essigsäure nur im Epilationstest eine protektive Wirkung entfaltet, während sie im Mäuseversuch keine solche zeigt.

### *Zusammenfassung*

Es wurden einige Serotonin- und Tryptophanmetaboliten und chemisch verwandte Substanzen auf ihre Strahlenschutzwirkung untersucht. Als Maß des Schutzeffektes beurteilten wir in sämtlichen Versuchen die Epilation beim Meerschweinchen. Einen überraschenden Effekt zeigte die 5-Hydroxy-Indolyl-(3)-Essigsäure. Diese Substanz erwies sich im Epilationstest im Gegensatz zu Schutzversuchen der ganz bestrahlten Maus als sehr wirksam. Falls unsere Versuche bestätigt werden könnten, würde hier erstmals ein divergentes Verhalten

zweier Testobjekte gegenüber der Wirkung strahlenschützender Substanzen vorliegen.

### Summary

The effect of radiation protection has been examined by using some serotonin metabolites and chemically related substances. In all the experiments the depilation of the guinea-pigs served as an indication of the radiation effect. The 5-hydroxy-indolyl-(3)-acetic acid, a metabolite of serotonin, equals the effect of protection by serotonin.

### Résumé

L'auteur a étudié l'effet radioprotecteur de quelques métabolites de la sérotonine et du tryptophane, ainsi que celui de quelques substances chimiquement apparentées. Lors de toutes ces expériences, l'auteur a utilisé le test de l'épilation chez le cobaye pour mesurer l'effet protecteur de ces différentes substances. L'acide 5-hydroxy-indolyl-(3)-acétique a un effet spécialement surprenant. Cette substance s'est révélée très efficace lors du test de l'épilation, alors que son effet radioprotecteur est nul chez la souris entièrement irradiée. Si nos expériences devaient être confirmées, il s'agirait dans ce cas pour la première fois de deux tests expérimentaux se comportant différemment envers les substances radioprotectrices.

### Literatur

1. Alexander, P.; Bacq, Z. M.; Consens, M.; Herve, A. and Cazar, J.: Mode of action of some substances which protect against the effects of X-rays. *Radiat. Res.* 2: 392 (1955).
2. Argyris, T. S.: The relationship between the hair growth cycle and the response of mouth skin to X-irradiation. *Amer. J. Anat.* 94: 439-471 (1954).
3. Bacq, Z. M. et Herve, A.: Sur un nouveau protecteur contre le rayonnement X. *Schweiz. med. Wschr.* 82: 1018 (1952).
4. Bacq, Z. M. et Herve, A.: Protection chimique contre le rayonnement X. *Bull. Acad. Méd. Belg.* 17: 13-57 (1952).
5. Bacq, Z. M. und Alexander, P.: *Grundlagen der Strahlenbiologie*. p. 197 (Thieme, Stuttgart, 1958).
6. Boyland, E. and Sargent, S.: The local greying of hair in mice treated with X-rays and radiomimetic drugs. *Brit. J. Cancer* 5: 433-440 (1951).
7. Chase, H. B.: Number of entities inactivated by X-rays in greying of hair. *Science* 113: 714 (1951).
8. Chase, H. B.: Radioactive damage to cells dependent on their tissue environment. *Brit. J. Radiol.* 31: 65 (1958).

9. *Daehler, P. E.*: Strahlenschädigungen der Haut: Ein Bericht von 52 Fällen von Röntgenschädigung. Med. Diss., Düsseldorf (1958).
10. *Dukor, P.*: Versuche zum Mechanismus der Strahlenschutzwirkung von Oxytryptaminderivaten. Strahlentherapie 117: 330–352 (1962).
11. *Faber, B.*: Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Protrahierung und Fraktionierung. Acta radiol. 20: 170–171 (1939).
12. *Flesch, P.*: Physiology and biochemistry of the skin. pp. 605–634 (University Press, Chicago 1954).
13. *Geary, J. R.*: Effect of roentgen rays during various phases of the hair cycle of the albino rat. Amer. J. Anat. 91: 51–106 (1952).
14. *Gray, J. L.; Tew, J. T. and Jensen, H.*: Protective effect of serotonin and of para-aminopropiophenone against lethal doses of X-radiation. Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 80: 604–607 (1952).
15. *Kriegel, H. und Melching, H. J.*: Strahlenschutzwirkung von Serotonin (5-Hydroxytryptamin) bei Ratten. Naturwissenschaften 23: 652–653 (1959).
16. *Langendorff, H. R.; Koch, R. und Hagen, U.*: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz: XIII Mitteilung. Strahlentherapie 99: 375 (1956).
17. *Langendorff, H.; Catsch, A. und Koch, R.*: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz: XVII Mitteilung. Strahlentherapie 102: 51 (1957).
18. *Langendorff, H. und Melching, H. J.*: Wirkungsmechanismus des 5-Hydroxytryptamins im Strahlenschutzversuch. Strahlentherapie 110: 505–508 (1959).
19. *Langendorff, H.; Melching, H. J. und Rösler, H.*: Zum Stoffwechsel des 5-Hydroxytryptamins bei Ganzkörperbestrahlung weißer Mäuse und Ratten. Strahlentherapie 113: 603 (1960).
20. *Leuthardt, F.*: Der Eiweißstoffwechsel: Tryptophan. Lehrbuch der physiologischen Chemie. p. 402 (de Gruyter, Berlin 1957).
21. *Maggiora, A.*: Sérotonine et effet local des rayons X. Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. 16: 315 (1960).
22. *Maggiora, A.*: L'épilation par rayons X chez le cobaye (doses fractionnées avec intervalles de 6, 12 et 24 h). De l'hyperpigmentation par rayons X chez le cobaye. Dermatologica: 123: 367–369 (1961).
23. *Maggiora, A.*: Die Schutzdauer des Serotonins verglichen mit dem Epilations-effekt beim Meerschweinchen. Dermatologica 124: 385–388 (1962).
24. *Maurer, H. J. und Mense, G.*: Die 17-Ketosteroidausscheidung im Urin nach hochdosierter Röntgenganzbestrahlung von Kaninchenböcken unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses der ATP. Strahlentherapie 96: 86 (1955).
25. *Maurer, H. J.*: Zur Frage des Strahlenschutzes durch i.v. Gabe von ATP. Strahlentherapie 96: 625 (1955).
26. *Melching, H. J.; Ernst, H. und Rösler, H.*: Zum Stoffwechsel des 5-Hydroxytryptamins bei der Ganzkörperbestrahlung weißer Mäuse und Ratten. Strahlentherapie 113: 394–400 (1960).
27. *Radivojevic, D. V.; Bacq, Z. M. et Beaumariage, M. L.*: Action radioprotectrice de la cystéamine, de la cystamine et de l'histamine sur l'épilation du souriceau exposé au rayonnement X. J. Physiol., Paris 52: 205–206 (1960).
28. *Radivojevic, D. V.; Beaumariage, M. L. et Bacq, Z. M.*: Histamine, 5-Hydroxytryptamine et protection du système pileux des souriceaux irradiés in toto. C. R. Soc. Biol. 154: 1489–1493 (1960).

29. *Rausch, L.; Breitling, G. und Unger, E.*: Tierexperimentelle, histologische und dosimetrische Untersuchungen über einfache strahlenbiologische Modelle und ihre praktische Anwendung. *Strahlentherapie* 115: 411–412 (1961).
30. *Scherbel, A.*: Serotonin and serotonin antagonists (VI international congress of international medicine), Basle 1960.
31. *Van Canegheim, P. und Dunjic, A.*: Die Bedeutung der Strahlenqualität für die temporäre Röntgenepilation. *Hautarzt* 8: 370–373 (1961).
32. *Van den Brenk, H. A. S. and Elliott, K.*: Radioprotective action of 5-Hydroxytryptamine. *Nature* 182: 1506 (1958).
33. *Van den Brenk, H. A. S. and Moore, R.*: Effect of high oxygen pressure of the protective action of cystamine and 5-Hydroxytryptamine in irradiated rats. *Nature* 183: 1530 (1959).
34. *Van der Meer, C.; Valkenburg, P. W. and Rimmelts, M.*: Effect of radioprotective sulphhydryl compounds on the oxygen tension in the spleen of mice. *Nature* 189: 588 (1961).

Adresse des Autors: Dr. Hansjörg Hobi, Dermatologische Universitäts-Klinik  
Petersgraben 9, Basel (Schweiz)